

Title	N-Linked Glycosylation of Mouse Adiponectin
Author(s)	田中, 正貴
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59049
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名 田 中 正 貴

博士の専攻分野の名称 博 士 (医学)

学 位 記 番 号 第 2 4 8 9 4 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 23 年 9 月 20 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当

医学系研究科内科系臨床医学専攻

学 位 論 文 名 N-Linked Glycosylation of Mouse Adiponectin

(アディポネクチンタンパクのN型糖鎖修飾について)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 下村伊一郎(副査)
教 授 菊池 章 教 授 熊ノ郷 淳

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

脂肪組織は種々の内分泌因子（アディポサイトカイン）を産生する内分泌組織である。肥満に伴い脂肪組織からの炎症性サイトカインの産生が増加し、脂肪細胞の本来の機能が損なわれることで、糖尿病や高血圧、動脈硬化といった病態に発展することが知られている。アディポネクチンは脂肪細胞から分泌される代表的なアディポサイトカインであり、抗インスリン抵抗性作用や抗炎症作用を持ち、最近ではがん抑制作用が報告されるなど、現代社会が直面している医学的問題と深く関連している。

これまでにアディポネクチンタンパクはいくつかの翻訳後修飾を受けることが明らかにされており、それらが分泌や多量体形成などに関与していることが報告されている。主要な翻訳後修飾の一つにN型糖鎖修飾があげられるが、アディポネクチンのN型糖鎖修飾については同定論文の一つにおいてその存在が否定されていた。しかしながら最近、血清中のN型糖鎖修飾タンパクの網羅解析の報告において、アディポネクチン由来のペプチドがN型糖鎖修飾されていることが報告された。このようにアディポネクチンのN型糖鎖修飾の有無について明確な結果が得られていない。そこで私は、アディポネクチンのN型糖鎖修飾体の有無について検討を行うこととした。

〔 方法ならびに成績 〕

3T3-L1繊維芽細胞と脂肪細胞の培養上清と、野生型マウスとアディポネクチンKOマウスから血清を回収し、SDS-PAGEに供した。Western blotting法を用いてアディポネクチンタンパクを可視化すると、脂肪細胞由来培養上清と野生型マウス血清において30kDa付近に移動度の高い主バンドと移動度の低い副バンドの2本のバンドとして検出された。次に、N型糖鎖切断酵素であるPNGaseFとEndoH処理して、バンドパターンの変化が生じるか観察した。PNGaseFはほぼすべてのN型糖鎖を切断できることが知られており、一方EndoHはゴルジ体以降で修飾された糖鎖を切断できないことが知られている。アディポネクチンタンパクをこれらの酵素と反応させると、EndoH処理ではバンドに変化が現れなかったが、PNGaseF処理によって副バンドのバンドシフトが確認された。また、2次元泳動を用いた解析でも移動度の遅いスポットが消失した。さらに、N型糖鎖付加を阻害するTunicamycinを3T3-L1脂肪細胞に処理すると副バンドのシグナル減弱が観察された。

次に糖鎖修飾部位の同定を行った。マウスアディポネクチンには糖鎖修飾される可能性がある配列(Sequon)が2か所存在する。野生型とそれぞれに対するアミノ酸置換体発現コンストラクトを

作成し、レトロウイルスを用いて3T3-L1脂肪細胞に遺伝子導入した。得られた強制発現細胞株を分化させ、培養上清を回収し、SDS-PAGEと2次元電気泳動に供した。Western blotting法を用いてアディポネクチンタンパクを可視化させると、野生型アディポネクチンと後方のSequonの変異体は、移動度の高いバンド（スポット）と移動度の低いバンド（スポット）として検出された。一方で、前方Sequonの変異体は移動度の低いバンド（スポット）が消失していた。

〔 総 括 〕

3T3-L1脂肪細胞由来または野生型マウス血清由来アディポネクチンには少なくとも2種類の移動度を持つものが存在することを明らかにした。また、その移動度の違いは53番目のアスパラギンに対する糖鎖修飾によることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

肥満は、糖尿病や高脂血症といった生活習慣病を引き起こす。肥満状態では、脂肪細胞からの炎症性サイトカインやアディポネクチンの発現が変化しており、生活習慣病の発症や進展に重要な役割を果たすと考えられている。

本申請者は、主要なアディポサイトカインの一つであるアディポネクチンに注目し、マウス血清または脂肪細胞培養上清中にSDS-PAGE上で移動度の異なる少なくとも二種類のアディポネクチンタンパクが存在することを明らかにした。また、その一方がN型糖鎖修飾されていることを示し、配列中のN型糖鎖修飾部位がAsn53であることも見出した。

本研究は、実験結果自体の意義もさることながら、今後の発展性にも期待できるものがあり、医学への貢献度が極めて高い研究であると言える。したがって、学位授与に値すると考える。